HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	SLPエキス(イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液)とフィッシュソリューブルのマコンブ配偶体に及ぼす効果
Author(s)	籔, 凞; 長谷川, 栄治
Citation	北海道大學水産學部研究彙報, 39(1), 14-20
Issue Date	1988-02
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/23982
Type	departmental bulletin paper
File Information	39(1)_P14-20.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

北大水産彙報
39(1), 14-20. 1988.

SLP エキス (イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液) と フィッシュソリューブルのマコンブ配偶体に及ぼす効果

籔　　凞*・長谷川　栄　治**

Effects of SLP (Squid Liver Protein Powder) Extract and Fish Soluble on the Gametophytes of *Laminaria japonica* Areschoug in Culture

Hiroshi YABU* and Eiji HASEGAWA**

Abstract

SLP (Squid Liver Protein Powder) extract and fish soluble from pollack and sardine, were tested to ascertain the effects on the growth and maturity for the gametophytes of *Laminaria japonica* Areschoug in seawater and in various artificial medium. SLP extract and diluted fish soluble having the same dry weight as with SLP extract, showed similar results in their equal concentrations in the same basic medium. The sufficient medium for the growth and maturity of the gametophytes was the seawater with 0.01% and 0.02% of both SLP extract and diluted fish soluble. With 0.01% and 0.02% of both SLP extract and diluted fish soluble, to the artificial medium containing NaCl, $MgSO_4$, $MgCl_2$, KCl, $CaCl_2$ and $NaNO_3$ or NaCl, $MgSO_4$, $MgCl_2$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$ and K_2HPO_4, most of the sporophytes produced were malformed.

籔ら (1984, 1986) はSLP エキス (イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液) を濾過海水に 0.01% 添加した液はワカメ配偶体の成熟に著しい効果のあることを認めたが, 本報告はSLP エキス並びにそれと含有物質が類似するフィッシュソリューブルを種々の基本液に添加してマコンブ (*Laminaria japonica* Areschoug) 配偶体の生育と成熟に及ぼす効果を調べたものである。

材料と方法

材料のマコンブは 1985 年 9 月 27 日, 北海道茅部郡南茅部町にある北大水産学部付属水産実験所前浜で採集し, 北大水産学部に持ち帰り, 翌日濾過海水を満たしてスライドグラスを敷きつめた大型シャーレの中に遊走子を放出させた。その 4 日後に表 3 に示す 7 種の基本液に SLP エキス, 又はフィッシュソリューブルを添加した液と, 比較対照液として濾過海水, Erd-Schreiber 液, 改変した Grund (McLachlan, 1973) の 3 液を用意し, 配偶体の培養を開始した。容器としては, 径 30 cm, 高さ 5 cm (容量 50 ml) のガラス瓶を各種の液に 2 個ずつ用い, 15°C, 3500 lux の下で培養し, 10 日毎に培養液の全量を換水した。SLP エキスの調製は籔ら (1984, p. 196, 表 1, A) の方法

* 北海道大学水産学部水産植物学教室
(*Laboratory of Marine Botany, Faculty of Fisheries, Hokkaido University*)
** 日本化学飼料株式会社中央研究所
(*Central Research Laboratory, Nippon Chemical Feed Company LTD*)

Table 1. Properties analysis of fish soluble (FS) from pollack and sardine

		FS (Pollack)	FS (Sardine)
Moisture	(%)	53.0	49.0
Crude protein	(%)	35.0	36.1
Crude fat	(%)	6.78	4.51
Crude ash	(%)	5.27	9.95
pH		6.3	5.7

Table 2. Components of vitamines, minerals and aminoacids on dry matter of fish soluble (sardine) used for the present culture.

(1) Vitamins

Component	Quantity	Analytical method
B_1	9.0 (ug/g)	Thiochrome-fluorescence
B_2	48.8 (ug/g)	Lumiflavin-fluorescence
B_6	16.1 (ug/g)	Microbio-assay
B_{12}	1.25 (ug/g)	〃
Nicotinic acid	169.0 (ug/g)	〃
Pantothenic acid	53.5 (ug/g)	〃
Biotin	350.0 (ng/g)	〃
Choline	6.1 (mg/g)	〃

(2) Minerals

Component	Quantity	Analytical method
Ca	0.2 (%)	Atomic absorption analysis
P	1.5 (%)	Molybdivanadophosphate
Na	2.1 (%)	Atomic absorption analysis
K	2.0 (%)	〃
Mg	13.7 (mg%)	〃
Cu	1.5 (mg%)	〃
Mn	2.0 (mg%)	〃
Zn	1.0 (mg%)	〃
Co	0.4 (ppm)	〃

(3) Aminoacids

Component	Quantity (g/100 g crude protein)	Component	Quantity (g/100 g crude protein)
Alanine	6.36	Hydroxyproline	1.10
Arginine	4.77	Proline	2.78
Aspartic Acid	5.21	Phenylalanine	2.46
Cystine	0.77	Serine	3.57
Glycine	7.89	Taurine	2.52

Glutamic Acid	8.17	Threonine	2.73
Histidine	1.89	Tyrosine	1.52
Isoleucine	2.62	Tryptophan	0.48
Leucine	4.24	Valine	3.39
Lysine	3.97	Ammonia	1.95
Methionine	1.87		
		Total	70.26
		N-Recovery (%)	95.0

Analytical method:

Components except Methionine, Cystine and Tryptophan: After sealed up in a glasstube and hydrolysis with 6N HCl under 110±1°C for 24 hr, measured by Hitachi Model KLA-5 amino acid analyzer. Methionine and Cystine; Measured by performic acid oxidation method. Tryptophan; Measured by hydrolysis with 6N $Ba(OH)_2 \cdot 8H_2O$ under 110±1°C for 20 hr.

Table 3. Components of each basic medium (I-VII)

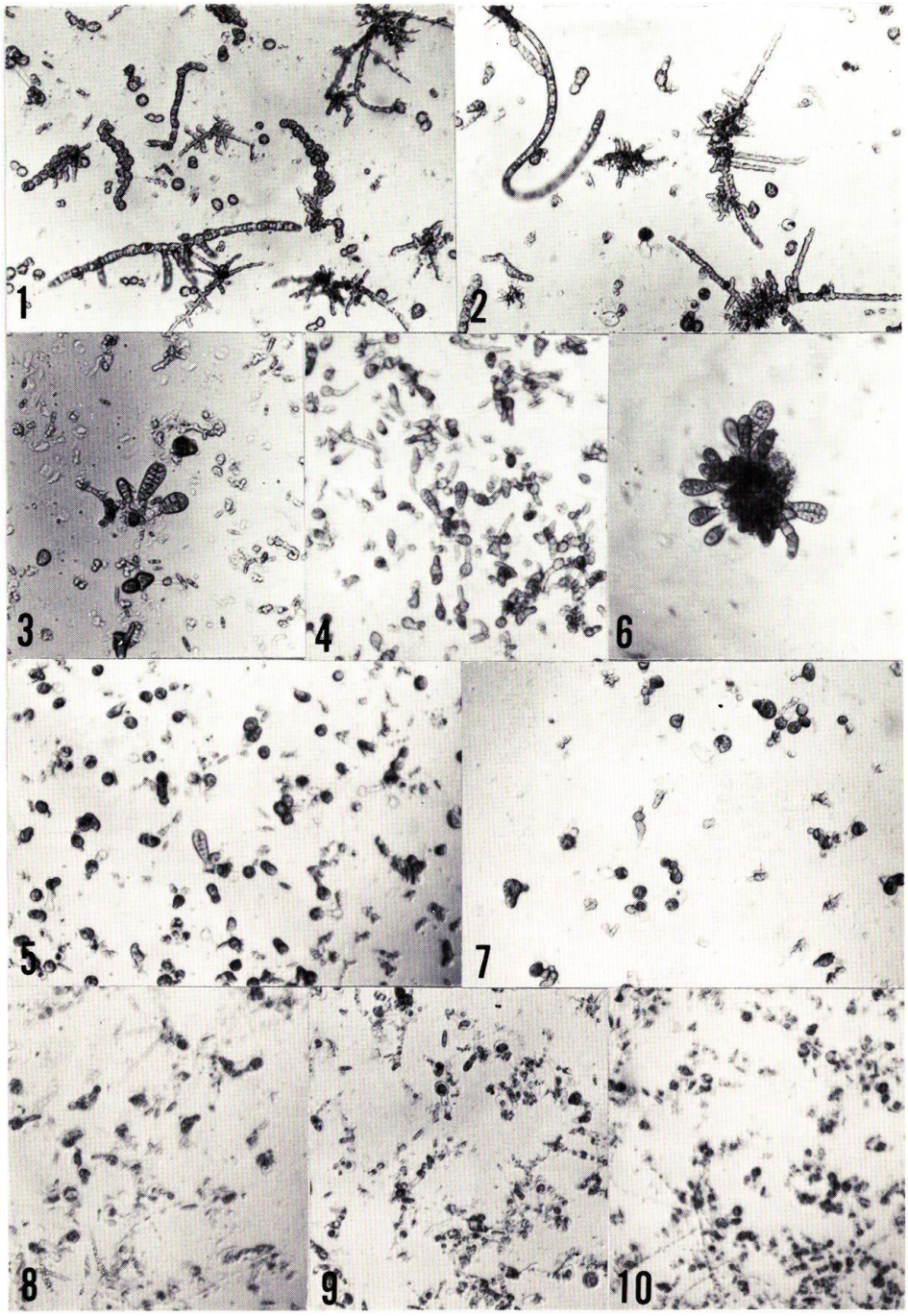
Component		I	II	III	IV	V	VI	VII
Filtered seawater		○						
Distilled water	100 ml		○	○	○	○	○	○
NaCl	2.8 g		○	○	○	○	○	○
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.7 g			○	○	○	○	○
$MgCl_2 \cdot 6H_2O$	0.4 g			○	○	○	○	○
KCl	0.07 g				○	○	○	○
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	147 mg					○	○	○
$NaNO_3$	10 mg						○	○
K_2HPO_4	1 mg							○

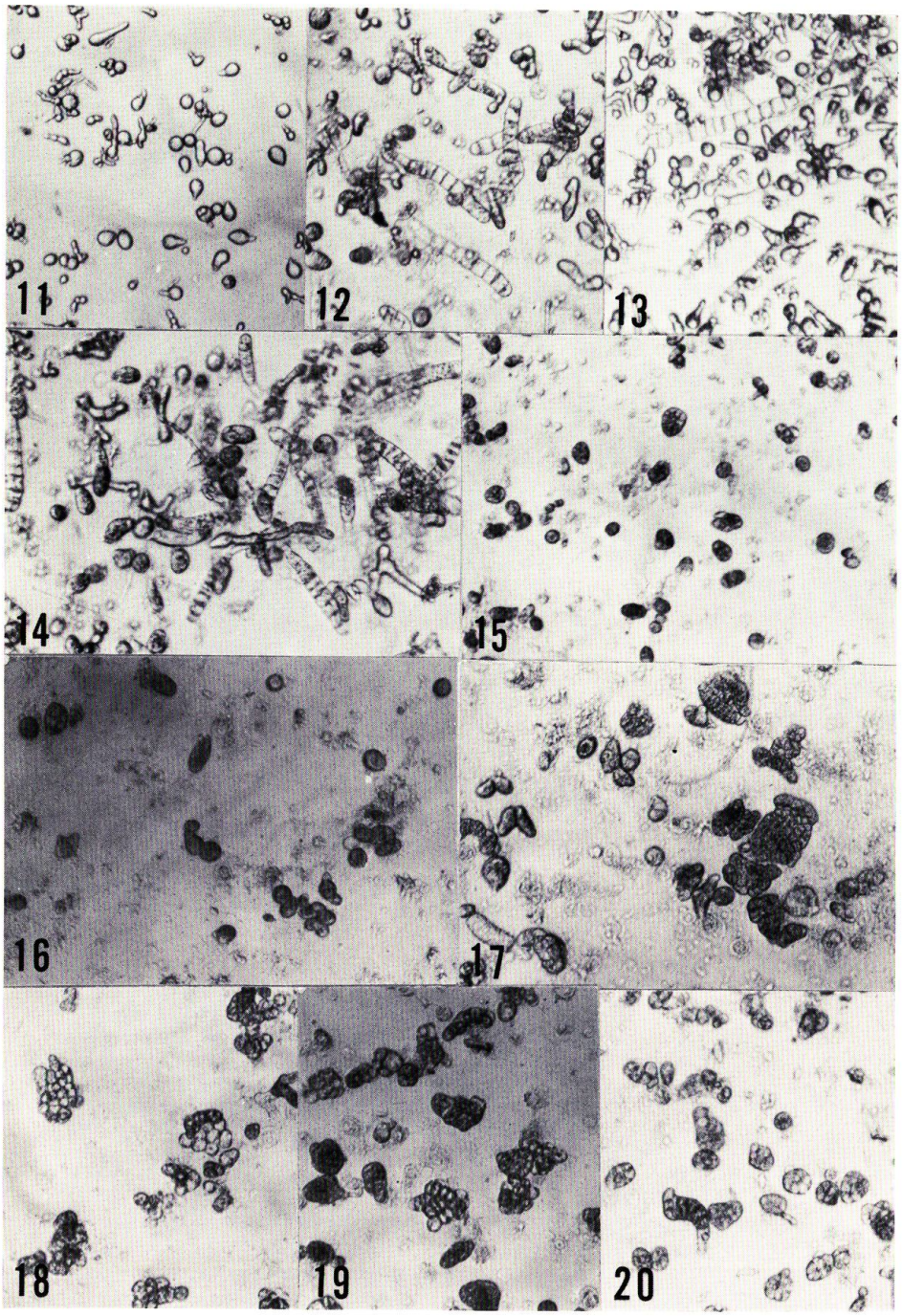
Table 4. Culture results in one-month old on the gametophytes of *Laminaria japonica* in the various media with SLP extract or DFS* (Diluted Fish Soluble) liquid from pollack and sardine, under 15°C, 3,500 lux and 12L: 12D photoperiod.

Basic medium	SLP/medium				DFS (pollack)/medium				DFS (sardine)/medium			
	1/10⁴	2/10⁴	5/10⁴	1/10³	1/10⁴	2/10⁴	5/10⁴	1/10³	1/10⁴	2/10⁴	5/10⁴	1/10³
I	◎	◎	◎	–	◎	◎	×	–	◎	◎	×	–
II	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
III	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
IV	△	△	△	×	△	△	△	×	△	△	△	×
V	□	□	△	×	□	□	□	×	□	□	△	×
VI	○	○	□	×	○	○	□	×	○	○	□	×
VII	○	○	□	×	○	○	□	×	○	○	□	×

◎ Good; ○ Good, but sporophytes were mostly malformed; □ Poor; △ Extremely poor and dead in about two-week old culture; × Dead already in five-day old culture.

* Added thrice the quantity of distilled water to FS (Fish Soluble).


1
2
3
4
6
5
7
8
9
10


11
12
13
14
15
16
17
18
19
20

Explanation of Figures. 1-20.

Figs. 1-20. Gametophytes and young sporophytes of *Laminaria japonica* Areschoug cultured in various media for two or three weeks old.
DFS: Diluted fish soluble (See * in Table 4)
Magnification: All Figures. ×125.

1-10. Cultures for two weeks old.
1. Culture in the basic medium V with SLP extract ($1/10^4$).
2. Culture in the basic medium V with pollack DFS ($1/10^4$).
3. Culture in the filtered seawater with SLP extract ($1/10^4$).
4. Culture in Erd-Schreiber.
5. Culture in the modified Grund solution.
6. Culture in the filtered seawater with sardine DFS ($1/10^4$).
7. Culture in the basic medium V with sardine DFS ($1/10^4$).
8. Culture in the basic medium II with SLP extract ($1/10^4$).
9. Culture in the basic medium III with SLP extract ($1/10^4$).
10. Culture in the basic medium III with sardine DFS ($1/10^4$).

11-20. Cultures for three weeks old.
11. Culture in the filtered seawater only.
12. Culture in the filtered seawater with SLP extract ($1/10^4$).
13. Culture in the filtered seawater with pollack DFS ($1/10^4$).
14. Culture in the filtered seawater with sardine DFS ($1/10^4$).
15. Culture in the basic medium VI with SLP extract ($1/10^4$).
16. Culture in the basic medium VI with pollack DFS ($1/10^4$).
17. Culture in the basic medium VI with sardine DFS ($1/10^4$).
18. Culture in the basic medium VII with SLP extract ($1/10^4$).
19. Culture in the basic medium VII with pollack DFS ($1/10^4$).
20. Culture in the basic medium VII with sardine DFS ($1/10^4$).

によった。SLPエキスの乾燥物含有量は約10% (籔ら, 1984, 表1) であるが，フィッシュソリューブルの乾燥物重量をこれと同一にするため3倍量の水を加えて希釈した。表1には使用したフィッシュソリューブルの一般性状を表2にはイワシを原料としたフィッシュソリューブル中のビタミン，無機塩類，アミノ酸の量を示した。

結　　果

表4に見られるように使用したI-VIIの基本液中に同濃度のSLPエキス又はフィッシュソリューブルを添加すると配偶体の生育と芽胞体の生育と芽胞体の形成にはほゞ同様の結果が得られ，フィッシュソリューブルの添加結果からは原料によるスケトウダラとイワシとの差は認められない。II-III液にSLPエキス又はフィッシュソリューブルを添加しても配偶体は成長することなく5日以内に全部死滅し (図8-10), IV液では培養約2週間後に死滅した。しかしV液ではSLPエキス又はフィッシュソリューブルを0.01%添加すると配偶体は培養期間中よく生育し (図1, 2および7)，培養1ヶ月後に少数の雌性体が幼芽胞体を形成した。VIとVIIの液ではSLPエキス又はフィッシュソリューブルを0.01%若しくは0.02%添加すると配偶体は濃褐色となり，雌性体は1～3個細胞のまゝで生存し，培養約20日後には全ての雌性体に幼芽胞体が形成されたが，殆んどの芽胞体は假根を生じることなく，細胞分裂も異常で奇形体となっていた (図15-20)。

濾過海水單用の場合 (図11) には培養1ヶ月後でも雌性配偶体は1～2個細胞，雄性配偶体は2～6個細胞にしか成長せず，両配偶体ともに未熟のまゝであった。Erd-Schreiber (図4) と改変したGrundの液 (図5) では配偶体の細胞数は濾過海水單用の場合と同じであったが，両液とも培

養10日目には雌性配偶体が既に成熟しており，1～4個細胞よりなる幼芽胞体の形成が認められた。使用した培養液では濾過海水にSLPエキス又はフィッシュソリューブルを0.01%又は0.02%添加した液（図3, 6, 12, 13および14）で芽胞体の形成が極めてよく，又，配偶体，芽胞体ともに正常に発育していた。

考　　察

籔ら（1984）はSLPエキスを0.01%添加した濾過海水がワカメの芽胞体形成に著しい効果のあることを報告している。今回のマコンブ配偶体の培養では同濃度のSLPエキスを濾過海水に添加すると芽胞体の形成が促進されることを確かめ，更にスケトウダラ又はイワシを原料としたフィッシュソリューブルを，乾燥重量がSLPエキスと等しくなるように希釈した液ではSLPと同様の結果が得られた。

籔ら（1986）は簡便な培養液を試作する目的で蒸留水に，NaCl, $MgSO_4$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$, K_2HPO_4 等を加えた液でワカメ配偶体を培養し，(NaCl, $MgSO_4$, KCl, $CaCl_2$), (NaCl, $MgSO_4$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$), (NaCl, $MgSO_4$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$, K_2HPO_4) を有する液にSLPエキスを0.01%添加すると芽胞体が生じたと報告している。筆者らの今回の結果では蒸留水に (NaCl, $MgSO_4$, $MgCl_2$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$) 又は (NaCl, $MgSO_4$, $MgCl_2$, KCl, $CaCl_2$, $NaNO_3$, K_2HPO_4) を加えた液にSLPエキス，又はフィッシュソリューブルを0.01%か0.02%を添加すると全ての雌性体が成熟した。しかしそこに生じた幼芽胞体の殆んどのものが奇形であった。このように奇形が生じた原因については，籔ら（1986）がワカメ配偶体の培養に使用した無機塩類の量が今回の培養とは幾分異なるためか或いはSchreiber (1930), やYabu (1964) が観察した奇形体のように単為発生の結果生じたものであるのか今後確かめる必要がある。

文　　献

McLachlan, J. (1973). Growth media-marine. p. 25-57. *In* J.R. Stein (ed.) Handbook of Phycological Methods. Cambridge University Press. New York.

Schreiber, E. (1930). Untersuchungen über Parthenogenesis, Geschlechtsbestimmung und Bastardierungsvermögen bei Laminarien. *Planta* **12**, 331-353.

Yabu, H. (1964). Early development of several species of Laminariales in Hokkaido. *Mem. Fac. Fish, Hokkaido Univ.* **12**, 1-72.

籔　凞・安井　肇・高本幹也 (1984). SLPエキス（イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液）添加によるワカメ配偶体の培養. 北大水産彙報. **35**, 195-200.

籔　凞・安井　肇・長谷川栄治 (1986). SLPエキス（イカ内臓蛋白粉末より得た抽出液）添加によるワカメ配偶体の培養II. 北大水産彙報. **37**, 1-5.